

**ÜBER DAS VERHALTEN VON SERUM- UND
URIN-HARNSÄURE BEI
MEHRSTÜNDIGER INTRAVENÖSER ZUFUHR
VON FRUCTOSE**

Konrad Schill

1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553809_0010

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

ÜBER DAS VERHALTEN VON SERUM- UND URINHARNSÄURE BEI MEHR-
STÜNDIGER INTRAVENÖSER ZUFUHR VON FRUCTOSE

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig - Maximilian - Universität zu München

vorgelegt von

Konrad Schill

aus

Ellwangen

1972

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Prof. Dr. N. Zöllner

Coreferent: Prof. Dr. W. Seitz

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 3. Juli 1973



DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

MEINEN ELTERN

INHALT

Einleitung	1
Überblick über frühere Arbeiten	3
Eigene Versuche	16
A. Methode	16
B. Versuchsanordnung	22
C. Ergebnisse	24
Diskussion	34
Zusammenfassung	38
Abbildungen	40
Tabellen	45
Literaturverzeichnis	51

Einleitung

Da Fructoseinfusionen einen breiten Raum in der parenteralen Ernährung einnehmen, haben wir es uns zur Aufgabe gemacht, bei gesunden Personen unter einheitlichen Versuchsbedingungen die Auswirkungen mehrstündiger Fructoseinfusionen - wie es den Gegebenheiten parenteraler Ernährung entspricht - auf das Verhalten der Serumharnsäurespiegel und die Harnsäureausscheidung zu untersuchen.

Bei der Fragestellung unserer Arbeit gingen wir davon aus, daß in der für dieses Thema relativ knapp bemessenen Literatur in verschiedener Hinsicht teilweise erhebliche Diskrepanzen unter den einzelnen Autoren bestanden, sowohl hinsichtlich der Ergebnisse als auch der Versuchsanordnungen.

So wurden meist sehr differierende Fructosezufuhrquoten zur Anwendung gebracht, welche von 0,25 g/kg KG bis 1,5 g/kg KG/h reichten. Weiterhin wurde die Fructose teils oral, teils intravenös appliziert, so daß schon allein aufgrund der verschiedenen Zufuhrarten zwangsläufig unterschiedliche Werte resultierten.

Bei den meisten Arbeiten handelte es sich, wie der Literatur zu entnehmen ist, um Stoßinfusionen bzw. Stoßinjektionen der Fructoseverabreichung, d.h. die Fructoselösungen wurden über ein kurzes Zeitintervall von einigen Minuten infundiert, und

die Blutproben wurden somit erst post infusionem in mehr oder weniger regelmäßigen Abständen entnommen. Auch sind bisher keine Untersuchungen über die Auswirkung der Zufuhrquote auf die Harnsäurespiegel im Serum und Urin mitgeteilt worden. Möglicherweise sind zahlreiche Widersprüche in der Literatur dadurch zu erklären.

Schließlich versuchten wir zu zeigen, daß doch ein wesentlicher Unterschied darin besteht, ob man nun mittels Stoßinjektion vorgeht oder ob man - wie es bei unseren Versuchen der Fall war - Dauerinfusionen mit konstanter Einlaufgeschwindigkeit verwendet. Solche Infusionen entsprechen eher den physiologischen Verhältnissen, denn Fructose wird nicht im Stoß aus dem Darm resorbiert, sondern über einen längeren Zeitraum. Darüber hinaus lassen sich durch die parenterale Zufuhr intestinale Faktoren, die nicht sicher zu bemessen sind, umgehen.

Überblick über frühere Arbeiten

Untersuchungen an Gesunden und Patienten

Im Jahre 1967 untersuchten PERHEENTUPA und RAIPIO (9) bei insgesamt 12 Versuchspersonen, welche sie in 3 Gruppen einteilten, erstmals die Harnsäurespiegel in Serum und Urin nach vorausgegangener Fructoseinfusion.

Bei der ersten Gruppe handelte es sich um 5 Anstaltskranke in gutem Allgemeinzustand und mit normalem Fructosestoffwechsel (sog. controls) im Alter von 3 Monaten bis zu 12 Jahren. Das zweite Kollektiv umfaßte 6 Kinder - 3 Jungen und 3 Mädchen - mit hereditärer Fructoseintoleranz (HFI) im Alter von 15 Monaten bis zu 11 Jahren. Schließlich wurde noch ein 26 jähriger Mann mit essentieller Fructosurie (EFU) in die Untersuchungen mit einbezogen.

Die aufgezählten Versuchspersonen standen alle unter fructosefreier Diät, und die Hexose wurde nach einer über die Nacht sich erstreckenden Fastenperiode mit einer Zufuhrquote von 0,5 g/kg KG/h intravenös als 20 %ige Lösung, oder aber oral als 10 %ige Lösung verabreicht. - Angaben über den Zeitraum, während dessen infundiert wurde, bestehen jedoch nicht. -

Die Autoren berichten, daß die intestinale Fructoseresorption

sehr schnell vonstatten ging und daß bei den Patienten mit HFI die orale Zufuhr zu quantitativ ähnlichen Veränderungen im Blut führte wie die intravenöse, jedoch mit einer 30-minütigen Verspätung.

Blutproben wurden wie folgt entnommen:

Bei parentaler Applikation: Vor der Infusion, nach 15, 30, 45, 60 und 120 Minuten.

Bei oraler Applikation: Vor der Infusion, nach 60, 180 und 300 Minuten.

Bei der Hälfte der HFI-Patienten wurde anschließend an die Fructoseinjektion 10 %ige Glucose 1 Stunde lang infundiert, um eine fructose-induzierte Hypoglukosämie zu vermeiden. In der Mehrzahl aller Fälle wurde darüber hinaus noch über 45 Minuten eine isotone Phosphatpufferlösung mit physiologischem pH zugeführt, um einer fructose-induzierten Hypophosphatämie aus dem Wege zu gehen.

Die gesunden Kontrollpersonen zeigten ebenso wie die Hereditär-Fructose-Intoleranten einen abrupten Anstieg der Serumharnsäure, wobei die Höhe desselben in beiden Gruppen annähernd gleich groß war: Bei den Kontrollpersonen reichte der Anstieg der Serumharnsäure von 1,9 bis 4,5 mg%, bei den Hereditär-Fructose-Intoleranten von 3,8 bis 5,0 mg%, und zwar sowohl bei oraler wie auch bei parenteraler Zufuhr. Bei 88 % der intravenös behandelten Personen erschien der Gipfel der Serum-

harnsäure nach 15 Minuten, sie war noch bis 5 Stunden nach der Infusion erhöht. Eine Zunahme der renalen Harnsäureausscheidung wurde in allen Fällen, mit Ausnahme des EFU-Patienten beobachtet.

Der prompte und deutliche Anstieg der Serumharnsäure bei den gesunden Kontrollpersonen und den Patienten mit HFI läßt nach Meinung der Autoren auf eine akute Zunahme der Harnsäuresynthese schließen.

Nach SEEGMILLER et al. (1961) werden 50 - 75 % der Harnsäure im Urin ausgeschieden. Ein Abfall der renalen Clearance dürfte für den signifikanten Anstieg im Serum nicht verantwortlich gewesen sein, da die Harnsäureausscheidung - wie bereits erwähnt - bei fast allen Personen zugenommen hatte. Die Möglichkeit jedoch, daß die forcierte Harnsäureproduktion nur eine scheinbare ist, hervorgerufen durch eine Verschiebung von einem intrazellulären Pool in den Extrazellulärraum, kann nicht vollständig ausgeschlossen werden, ist aber doch sehr unwahrscheinlich.

Nebenbei geben PERHEENTUPA und RAIPIO (1967) noch zu bedenken, daß der Mechanismus der Harnsäurebildung bei den Kontrollpersonen und bei den Patienten mit HFI jeweils ein verschiedener sein könnte, daß es sich also keineswegs um die gleiche Herkunft der Harnsäure zu handeln braucht. Die Resultate zei-

gen auch, daß die Harnsäurebildung fructoseinduziert ist und nicht etwa durch die Erschöpfung anorganischen Phosphats primär zustande kommt, denn die biochemische Aktivierung der Fructose erfordert ATP. Bei der Phosphorylierung der Fructose wird ATP verbraucht, und dabei entsteht ADP und Fructose-1-Phosphat. Um dieses Molekül wieder in eine energiereiche Form (ATP) überzuführen, wird anorganisches Phosphat verbraucht, und das umso mehr, je mehr ADP vorliegt.

PERHEENTUPA und RAIPIO (9) messen der Milchsäure die entscheidende Rolle für die Harnsäureüberproduktion bei. Die Verfasser sind der Meinung, daß ein Block im Gluconeogeneseweg - hervorgerufen durch die Hemmung der Glucosephosphatisomerase infolge eines Überangebotes an Fructose-1-Phosphat - zu der beschleunigten Lactatbildung in der Leber führt. Erhöhte Harnsäurebildung wurde bereits demonstriert in Verbindung mit erhöhter Produktion von β -Hydroxybuttersäure im Hungerzustand (PABLICO ET AL. 1965) und bei Glucose-6-Phosphatase-Mangel. Daher wurde angenommen, daß für die fructoseinduzierte Hyperuricämie die intrazelluläre Azidose in der Leber, hervorgerufen durch die Milchsäureüberproduktion, verantwortlich ist. Diese Hypothese stimmt auch gut überein mit der bekannten Verbindung von Hyperuricämie mit anderen Zuständen einer erhöhten Säurebildung in der Leber, wie z.B. diabetische Azidose, akuter Alkoholismus, etc.

Lactationen (QUICK 1932) und β -Hydroxybutyrationen (SCOTT et al. 1964) hemmen die renale Harnsäureausscheidung unabhängig von einer Azidose. Der Mechanismus der erhöhten Harnsäurebildung und seine metabolischen Ursprünge sind bis heute jedoch unbekannt.

ALEPA et al. (1967) demonstrierten die erhöhte Harnsäuresynthese bei Glucose-6-Phosphatase-Mangel und schlugen vor, daß das überschüssige Glucose-6-Phosphat in der Leber in den Pentosephosphatzyklus einmündet und somit Anlaß zur Bildung von Phosphoribosylpyrophosphat gibt. Dieser Metabolit stellt das Substrat des ersten irreversiblen Schrittes für die de-novo-Synthese der Purine dar. Diese energiereiche Verbindung könnte theoretisch auch von der Fructose stammen. Im allgemeinen wird der schnelle massive Anstieg der Serumharnsäure wohl kaum Folge einer Purinsynthese sein. Wahrscheinlich ist er auf den praeexistentiellen Purinpool in der Leber zurückzuführen.

FÖRSTER und MEHNERT (3) prüften das Verhalten von Serumharnsäure nach Fructoseinjektion, Glucoseinjektion und Fructose + Insulingabe an 4 gesunden Versuchspersonen. Ihren Angaben zufolge schnellte die Harnsäure nach Verabreichung von Fructose - mit und ohne Insulinzufuhr - auf annähernd das Doppelte des Nüchternenwertes empor. 400 ml 25 %ige Fructoselösung riefen einen mit $p < 0,025$ für alle Werte zwischen 60 - 240 min signifikanten Harnsäureanstieg hervor. Der Verabreichungsmodus entsprach dem einer Stoßinfusion.

Im Vergleich zu den Ergebnissen von PERMEENTUPA und RAIVIO (9) ist zu bemerken, daß es sich in der Arbeit von FÖRSTER und Mitarb. (3) hinsichtlich der Dosierung um erheblich höhere Zuckerkonzentrationen handelt, falls man diesbezügliche Berechnungen unter Annahme einer 70 kg schweren Versuchsperson und einer einstündigen Infusionsdauer anstellt. FÖRSTER und Mitarbeiter (3) ziehen als Erklärung für den Harnsäureanstieg den von der Glucose abweichenden Fructoseabbauweg in Erwägung. Dieser unterscheidet sich von der Glycolyse durch das Entstehen des nicht phosphorylierten Glycerinaldehyds. Für den Harnsäurezuwachs könnte demnach Glycerinaldehyd oder eines seiner Abbauprodukte verantwortlich sein. Dieser Theorie widersprechen jedoch zwei Befunde, die an Patienten mit HFI erhoben wurden, und denen zufolge sich auf Fructoseinfusion ebenfalls ein Harnsäureanstieg manifestierte. Bei der genannten Erkrankung ist die Fructaldolase in der Leber stark reduziert, und es kommt zum Aufstau von Fructose-1-Phosphat und zu stark gedrosselter Bildung von Glycerinaldehyd und Dihydroxyacetonphosphat. Glucoseinfusion bewirkten keine Änderung des Harnsäurespiegels.

Ähnliche Versuche wurden auch von CURRERI und PRUITT (2) unternommen. Sie behandelten insgesamt 10 erwachsene männliche Patienten, die an äußeren Verbrennungen litten, mit einem Durchschnittsalter von 25 Jahren. 5 Männer erhielten über 2 Stunden 500 ml 10 %ige Fructoselösung pro Stunde.

Diese Menge entspricht bei Zugrundelegung von 70 kg Körpergewicht einer Zufuhrquote von 0,71 g/kg KG. Die restlichen 5 Patienten wurden über einen Zeitraum von 5 Stunden mit einer konstanten Dauerinfusion von 0,29 g/kg KG/h belastet, die Blutentnahmen erfolgten nüchtern, nach 30 Minuten, 60 Minuten und dann stündlich bis zur 300-Minutengrenze. Hierbei war bei keinem der Patienten während der Infusionsperiode ein signifikanter Zuwachs der Serumharnsäure festzustellen. Diese Studie bestätigt nach Meinung der Verfasser die Befunde nicht, welche von PERHEENTUPA und RAIVIO (9) an Kindern erhoben wurden.

STIRPE et al. (13) fanden, daß Fructose bei Gesunden einen mäßigen Anstieg der Serumharnsäure bewirkt. Die Versuchspersonen erhielten die Hexose oral verabreicht nach einer nächtlichen Fastenperiode. Die Fructose war in 250 ml Wasser gelöst und entsprach einer Menge von 1 g/kg KG. Während des Versuchs durfte nach Belieben Wasser getrunken werden, Nahrungsaufnahme war jedoch untersagt.

Über hochdosierte Stoßbelastungen von Fructose berichten FÜRSTER und Mitarb. (4) in einer späteren Arbeit. Sie bedienten sich freiwilliger, stoffwechselgesunder Studenten im Alter von 21 bis 25 Jahren und infundierten den Versuchspersonen 1,5 g Fructose/kg KG in 20 bis 25 Minuten als 20 %ige Lösung. Venöses Blut wurde nüchtern, nach 60 Minuten und 180 Minuten post infusionem entnommen, und es wurde ein vor-

übergehender Anstieg der Serumharnsäure beobachtet. Über eine derartige Harnsäureerhöhung wurde bereits früher (9,3,13) berichtet. Da nun dieser Anstieg durch Allopurinol (5) zu hemmen ist, ist ein renaler Mechanismus ausgeschlossen. Mit Hilfe der Kreatininclearance ließ sich zudem eine erhöhte renale Ausscheidung im Anschluß an die Infusionen nachweisen.

Neuerdings berichteten SAHEBJAMI und SCARLETTAR (11) über die Auswirkungen von Fructose auf die Blutspiegel von Harnsäure und Milchsäure. Außerdem stellten sie quantitative Untersuchungen über den Urin-pH, über Serumbikarbonat und Blutzucker an. Die Experimente betrafen 10 männliche gesunde Versuchspersonen im Alter zwischen 25 und 41 Jahren, welche am Vortag auf alkohol- und fructosefreie Diät gesetzt wurden. Auf eine einstündige Kontrollinfusion mit physiologischer Kochsalzlösung erfolgte eine gründliche Blasenentleerung. Sodann wurde über einen Zeitraum von 2 Stunden eine 10 %ige Fructoseinfusion angehängt, die einer Dosierung von 0,5 g/kg KG/h entsprach. Die Blutproben wurden nach 15, 30, 45, 60, 120 und 180 Minuten entnommen, der Urin wurde stündlich gesammelt und sein pH gemessen. Die Autoren kamen zu folgenden Resultaten: Unter NaCl fielen Lactat und Harnsäure im Serum leicht ab, unter Fructose zeigte sich keine signifikante Änderung des Harnsäurespiegels. Der Lactatspiegel nahm kontinuierlich in Abhängigkeit vom steigenden Fructosespiegel zu, mit einem Maximum von $62,2 \pm 9,5$ mg% nach 90 Minuten

($p < 0,02$). Eine Stunde post infusionem fiel die Milchsäure wieder auf ihren Initialwert ab. In Korrelation zu diesem Verhalten des Serumlactats stand das Absinken des Serum-Bikarbonats von $19,2 \pm 0,6$ meq/l auf $16,7 \pm 0,8$ meq/l. Während der zweistündigen Fructoseinfusion waren ein Anstieg des Urinvolumens, der Uratausscheidung und der Urat-clearance festzustellen. Das Verhalten des Urin-pH war unauffällig, auch zu der Zeit, als die Schwankungen der Bikarbonat- und Lactatproduktion am größten waren.

Die Autoren weisen im Rahmen ihrer Diskussion darauf hin, daß bei sehr hohen Fructoseinfusionsraten ($3,5$ g/kg KG/h) nur noch ein unwesentlicher Anstieg des Blut-Lactats im Vergleich zu erheblich niedrigeren Dosen zustande kommt. Dieser Umstand läßt auf eine Sättigungsrate bzw. Substrathemmung einiger Enzyme des Fructosestoffwechsels schließen. Weiterhin gilt als bewiesen, daß der Anstieg des Serum-Lactats bei Gesunden und bei Diabetikern identisch ist. Die hyperuricaemischen Wirkungen der Fructosezufuhr sind nach Meinung der Verfasser unter Umständen dosisabhängig, da sie mit kleineren Konzentrationen nicht hervorgerufen werden können. Andererseits kann Lactatacidämie schon mit kleineren Dosen Fructose erzeugt werden. Fructose kann also in physiologischen Dosen ohne die Gefahr, eine Hyperuricaemie heraufzubeschwören, appliziert werden. Die Verabreichung dieses Zuckers ist jedoch kontraindiziert bei solchen klinischen Bildern, bei denen

eine Lactatanhäufung vermieden werden muß, wie beispielsweise beim Diabetes mellitus.

Zu ganz ähnlichen Folgerungen gelangen BERGSTRÖM und Mitarb. (1). Sie infundierten ebenfalls Fructose, allerdings in Konzentrationen von 0,4 g/ kg KG/h bis zu 1,3 g/kg KG/h, und zwar sowohl gesunden Versuchspersonen als auch Diabetikern. Auch hier kam es unter Fructose zu einem Lactatanstieg, und das Serum-Bikarbonat fiel korrelierend dazu ab. Der Milchsäureanstieg der Diabetiker zeigte im Vergleich zu gesunden Personen keine Besonderheiten. Er führte jedoch zu einer verstärkten Azidose dieser Patienten, in deren Gefolge es dann zu einem Abfall des Blut-pH und der Lactatkonzentration im Blut kam. Die Fructoseinfusion hatte einen wesentlichen Anstieg der Blutglucose zur Folge. Schließlich weisen auch BERGSTRÖM und Mitarb. (1) darauf hin, daß die schnelle Applikation von Fructose bei azidotischen Patienten kontraindiziert ist.

Einer Arbeit von SMITH und Mitarb. (12) ist zu entnehmen, daß das anorganische Phosphat im Laufe einer Fructoseinfusion schneller abfällt, als dies bei einer parenteralen Glucoseverabreichung der Fall ist. Der Phosphatspiegel kehrte jedoch unter Fructose wieder früher zur Norm zurück als unter Glucose. Auch die Anstiege von Serumlactat, Pyruvat und Ketoglutarat sind unter Fructose eindrucksvoller als unter Glucosebelastung. Das gilt für gesunde Personen wie auch für Leberkranke und Diabetiker.

1968 veröffentlichten MÄENPÄÄ und Mitarb. (8) eine Arbeit, in der sie über die Wirkung von Fructose auf den Stoffwechsel der Adeninnucleotide und die Proteinsynthese in der Rattenleber berichteten. Dem Modus der Fructosezufuhr nach handelte es sich um Stoßinjektionen, in deren Verlauf bereits nach 15 Minuten der hyperuricaemische Gipfel der Serumharnsäure auftrat. In gleicher Weise war der Anstieg des Allantoins, (Endprodukt des Nucleinsäurenabbaus bei Ratten) signifikant. Bereits 1 Minute nach der Fructoseinjektion fiel der ATP-Spiegel in der Leber signifikant ab. Der Nettoeffekt der Fructose hinsichtlich der Gesamtnucleotide war ein Abfall derselben auf ca 53 % des Kontrollspiegels nach 5 Minuten. Nach 30 Minuten war der Lebergehalt an ATP und Gesamtnucleotiden immer noch signifikant niedriger als bei den Kontrolltieren. Das anorganische Phosphat in der Rattenleber fiel noch schneller und ausgeprägter ab: Nach 1 Minute war die Hälfte und nach 5 Minuten 1/3 des Ausgangswertes erreicht, nach 30 Minuten war jedoch das anorganische Phosphat - im Gegensatz zur langsameren Kinetik des ATP-Stoffwechsels - auf seinen Ausgangswert zurückgekehrt.

Bei weiteren Versuchen von MÄENPÄÄ et al.(8) mit Glucose, Galactose, Ribose und Sorbitol anstelle von Fructose ließ nur Sorbitol das Leber-ATP deutlich abfallen, jedoch lange nicht so ausgeprägt wie dies unter Fructosezufuhr der Fall war. Da ATP eine wichtige Funktion bei der Proteinsynthese übernimmt, wurde die fructose-induzierte Erschöpfung des ATP-

pools mittels Einbau von radioaktiv markiertem DL-Leucin-1- C^{14} in Leberprotein untersucht. Hierbei ließ sich bei der im Abstand von 2 Minuten auf die Fructoseapplikation erfolgten Leucininjektion ein Abfall der Radioaktivität auf weniger als 10 % feststellen, was mit einem signifikanten Abfall der Proteinsynthese zu erklären ist. Betrug das Zeitintervall zwischen Fructose- und Leucininjektion 12 Minuten, so fiel die Radioaktivität gerade noch auf die Hälfte ihres Ausgangswertes ab, und bei einem zeitlichen Zwischenraum von 27 Minuten konnte kein Abfall der Strahlungsintensität mehr beobachtet werden. Nach Auffassung der Autoren scheint bei der Regulation des intrazellulären Spiegels der Purinnucleotide die Adenylatdeaminase, welche Adenin zu Inosin desaminiert, eine wesentliche Funktion zu haben. Diese Ansicht wird gestützt durch die bekannten regulatorischen Eigenschaften dieses Enzyms: starke Stimulierung seinerseits durch ATP und starke Hemmung durch GTP und anorganisches Phosphat.

Der Fructosestoffwechsel ruft in der Leber eine initiale starke Phosphorylierung hervor, an welche sich die Aldolase-reaktion anknüpft. Im Gefolge dieser Reaktionen kommt es dann zu einem Abfall des ATP-Bestandes mit entsprechendem Anstieg von ADP und AMP, zur Anhäufung von Fructose-1-Phosphat und zum Abfall des anorganischen Phosphats. Die erhöhte Harnsäure- und Allantoinproduktion führen MÄENPÄÄ und Mitarb. (8) auf den ATP-Abfall zurück. Dieses Phänomen kann nun wiederum mit den stoffwechselaktiven Eigenschaften der Adenylatdeaminase

erklärt werden: fällt der intrazelluläre anorganische Phosphat-spiegel, dann wird dieses Enzym stark aktiviert, und ein vorübergehender Anstieg der Substratkonzentration (AMP) begünstigt den beschleunigten Zusammenbruch der Adeninnucleotide auf diesem Weg.

Zu entsprechenden Ergebnissen gelangten auch WOOD, EGGLESTON und KREBS (14), welche ebenfalls Fructoseinjektionen an Ratten zur Grundlage ihrer Experimente machten. Die ausgeprägtesten Effekte bestanden in der Anhäufung von Fructose-1-Phosphat, welches - im Übermaß vorhanden - die Fructaldolase hemmt. Weiterhin wurde 40 Minuten nach der Hexosezufuhr ein Abfall der Gesamtnucleotide auf 35 % des Ausgangswertes registriert, welcher mit einem Anstieg des IMP auf das Siebenfache ($1,14 \mu\text{mol/g}$) seines Ausgangswertes einherging. Ein vorübergehender Abfall anorganischen Phosphats von $4,2 \mu\text{mol/g}$ auf $1,7 \mu\text{mol/g}$ konnte zudem festgestellt werden. Lactat und Pyruvat stiegen an, wobei der Lactat-Pyruvat-Quotient im physiologischen Bereich bestehen blieb. Interessant war hier auch die Feststellung, daß die Fructose-1-Phosphat-Spaltung mittels Leberaldolase durch verschiedene phosphorylierte Intermediate, an erster Stelle muß hier IMP genannt werden, gehemmt wird.

Diese Ergebnisse untermauern also die Befunde von MÄENPÄÄ und Mitarb. eindeutig.

Eigene Versuche

A. Methode der Harnsäurebestimmung:

Versuche, Uricase zur Harnsäurebestimmung einzusetzen, reichen bis in das Jahr 1939 zurück (BLAUCH, KOCH), aber erst die Methode von KALCHAR und SHAFRAN (7) setzte sich durch. Ihre Weiterentwicklung durch PRÄTORIUS und POULSEN (10) kann heute als die Standardmethode angesehen werden. Wir verfahren nach einer einfachen Modifikation dieser Bestimmungsmethode, welche von ZÖLLNER (15) entwickelt und erprobt wurde. Diese Vereinfachung der fermentativen Harnsäurebestimmung verringert ohne Einbuße der Genauigkeit den Zeitaufwand für die quantitativen Untersuchungen beträchtlich.

Prinzip

Durch Einwirkung von Uricase wird Harnsäure in Allantoin umgewandelt. Gleichzeitig verschwindet die typische Absorptionsbande bei 293 m μ . Dieser Extinctionsabfall beträgt bei Verwendung des angegebenen Glycinpuffers 0,0745 für eine Harnsäurekonzentration von 1 μ g/ml und eine Schichtdicke von 1 cm.

Erforderliche Lösungen

- a) G l y c i n p u f f e r - S t a m m l ö s u n g: 0,66 molar, pH 9,3. 25,0 g kristallines Glycin werden in 200 ml destil-

liertem Wasser aufgelöst; nach Zugabe von 110 ml 1/normaler NaOH wird auf 500 ml mit aqua destillata aufgefüllt. Das pH ist an der Glaselektrode zu kontrollieren und eventuell unter tropfenweiser Zugabe von 5/n HCL bzw. NaOH einzustellen.

- b) G l y c i n p u f f e r - G e b r a u c h s l ö s u n g :
Man verdünnt die Stammlösung mit bidestilliertem Wasser 1:10.
Dabei ist sehr darauf zu achten, daß innerhalb einer Bestimmungsreihe ausschließlich die gleiche Gebrauchslösung verwendet wird.
- c) E n z y m p r ä p a r a t : Uricase-Löwens, Kemiske Fabrik Kopenhagen.
- d) U r i c a s e - S t a m m l ö s u n g : Der Inhalt einer Uricase-Ampulle (75 Einheiten) wird in 0,25 ml Puffer-Gebrauchslösung aufgelöst. Diese Lösung ist im Kühlschrank etwa 14 Tage haltbar.
- e) U r i c a s e - G e b r a u c h s l ö s u n g : Vor der Durchführung der Analysen wird eine entsprechende Menge der Uricase-Stammlösung - in unserem Falle 2 Ampullen pro Bestimmungsreihe mit insgesamt je 60 Analysen - mit Puffer-

Gebrauchslösung 1:100 verdünnt. Unter den von uns gewählten Bedingungen liegt die Eigenextinktion dieser Lösung zwischen 0,010 und 0,015.

Durchführung

a) 1 ml Serum wird mit Puffer-Gebrauchslösung im Meßkölbchen auf 25 ml verdünnt. Wir verwendeten 0,4 ml Serum auf 10 ml, um die Versuchspersonen hinsichtlich des zu entnehmenden Gesamtblutvolumens zu schonen, da auch noch für andere Untersuchungen (FFS, Triglyceride, Insulin, Fructose) Blut gebraucht wurde.

Beim Verdünnungsgang ist zu beachten, daß Serum im alkalischen Milieu leicht schäumt. Daher empfiehlt es sich, zuerst nur durch vorsichtiges Schwenken bis zur Marke aufzufüllen und dann erst endgültig zu mischen. Da Harnsäure im alkalischen Bereich an der Luft oxydiert, muß von diesem Schritt an zügig weitergearbeitet werden.

b) Für die Photometrie werden folgende A n s ä t z e gemacht:

I. Zur Bestimmung der Eigenextinktion des Enzyms (E_u) werden in je ein Zentrifugenglas pipettiert:

- 1.) 2 ml Puffer-Gebrauchslösung; 1 ml Uricase-Gebrauchslösung
- 2.) 3 ml Puffer-Gebrauchslösung.

- II. Zur Bestimmung des Extinktionsabfalls im jeweiligen Serum-
satz (E_{HS}) werden in je ein Zentrifugenglas pipettiert
- 3.) 2 ml verdünntes Serum; 1 ml Puffer-Gebrauchslösung
 - 4.) 2 ml verdünntes Serum; 1 ml Uricase-Gebrauchslösung

Die Fermentzugabe (d.h. die Ansätze I, 1 und II, 4) erfolgt erst nach Fertigstellung der Ansätze I, 2 und II, 3, damit eine Verunreinigung dieser Proben durch Fermentspuren vermieden wird. Alle Gläserinhalte sind gut durchzuschütteln, nachdem sie mit Parafilm abgedeckt worden sind, und bei Zimmertemperatur 30 Minuten stehenzulassen.

c) die P h o t o m e t r i e erfolgt am Spektralphotometer bei Wellenlänge 293 m μ mit Quarzküvetten von 10 mm Schichtdicke. Zur Bestimmung der Eigenextinktion des Ferments wird I, 1 gegen I, 2 als Nullwert abgelesen. Bei den Serumansätzen dient II, 4 als Nullwert für die Ablesung von II, 3. Die Ablesung der Serumansätze wird in einer Stichprobe nach 5 Minuten wiederholt, um festzustellen, ob die Uricase-Reaktion abgeschlossen ist; dazu darf sich die Extinktion in diesem Intervall nicht geändert haben.

Die Küvette für Ansatz I, 1 wird nachher für Ansatz II, 4, die Küvette für Ansatz I, 2 nachher für Ansatz II, 3 verwendet, damit die Proben ohne Enzyme (II, 3) nicht mit Enzymresten aus I, 1 in Berührung kommen. - Obwohl Doppelbestimmungen immer sehr gute Übereinstimmung zeigen, ist es zweckmäßig, die Untersuchungen als Doppelbestimmungen durchzuführen.

Berechnung

Die photometrische Ablesung der Serumverdünnung vor Uricase-Einwirkung gegen die Serumverdünnung nach Uricase-Einwirkung (E_{HS}) wird nicht berücksichtigt, da nur einem der Ansätze Uricase zugesetzt wird. Der Extinktionsdifferenz dieser Ablesung ist deshalb die Eigenextinktion des Enzyms (E_U) zu addieren; die Harnsäurekonzentration ist proportional ($E_U + E_{HS}$). Da der Extinktionskoeffizient für eine Lösung von 1 $\mu\text{g/ml}$ in der 1 cm-Küvette 0,0745 beträgt, ist die Konzentration im Versuchsansatz gleich

$$\frac{E_U + E_{HS}}{0,0745} \quad (\mu\text{g/ml})$$

Unter Berücksichtigung der Verdünnungen und Abrundung des Extinktionskoeffizienten berechnet sich daraus die Harnsäurekonzentration im Serum zu:

$$\frac{(E_U + E_{HS}) \cdot 3 \cdot 25 \cdot 100}{0,0745 \cdot 2 \cdot 1000} \text{ mg} = \frac{(E_U + E_{HS}) \cdot 100}{2} \text{ mg\%}$$

Durch die günstig gewählten Verdünnungen ist die Rechnung also sehr einfach.

Bestimmung im Harn

Je nach der Harnsäurekonzentration im Urin werden 0,1 bzw. 0,2 ml Harn auf 25 ml Puffer-Gebrauchslösung verdünnt. (Wir

verdünnten 0,2 ml Harn auf 10 ml). Im weiteren wird wie für Serum verfahren. Bei der Berechnung wird die stärkere Verdünnung entsprechend berücksichtigt. - Im Sammelurin ist ein Teil der Urate bereits ausgefallen. Zur quantitativen Bestimmung ist es daher notwendig, den Sammelharn kräftig zu rühren und einen aliquoten Teil nach vollständiger Suspension des Niederschlags zu entnehmen.

Ergebnisse spezifischer Versuche mit Rinderalbumin erbringen den Beweis, daß Unterschiede in der Eiweißkonzentration keinen Einfluß auf die Resultate der Bestimmung haben. Die Normalwerte der Serumharnsäure liegen unter Anwendung der geschilderten Methode und unter Berücksichtigung der 2 σ -Grenzen für Männer zwischen 2,22 mg% und 7,50 mg%, für Frauen zwischen 1,47 mg% und 6,63 mg%.

Reagenzien

- 1.) G l y c i n p u f f e r 0,66 m, pH 9,3
- 2.) U r i c a s e Löwens
- 3.) A q u a b i d e s t i l l a t a

B. Versuchsanordnung

Die Fructoseinfusionen wurden an 22 stoffwechsel- und kreislaufgesunden, freiwilligen Männern im Alter von 19 bis 26 Jahren durchgeführt. Die Experimente wurden zunächst in drei Versuchsgruppen unterteilt, in denen mit 4 verschiedenen Zufuhrquoten gearbeitet wurde: 0,25, 0,5, 1,0 und 1,5 g/kg KG/h. Von den letzten beiden Zufuhrraten wurden je 8 Infusionen, von den ersten beiden wurden 3 Versuche durchgeführt. Außerdem wurden noch weitere 3 Tests - insgesamt also 22 Versuche - angestellt, die jedoch in den weiteren Ausführungen nicht berücksichtigt werden, da es sich bei diesen 3 Personen um latente Hyperuricämiker handelte.

Die Infusionsdauer betrug in 7 Fällen 6 Stunden, in den restlichen 12 Versuchen jeweils 4 Stunden.

Zahl der Versuchspersonen	Zufuhrquote in g/kg KG/h	Infusionsdauer in Stunden
1	0,25	3
3	0,50	4
5	1,00	4
3	1,00	6
4	1,50	4
4	1,50	6

Tab. 1: Überblick über sämtliche Versuche

Die präzise Einstellung der Zufuhrsraten erfolgte mit einer Infusionspumpe der Fa. HARVARD Apparatus Co., Dover, Mass., welche wir vor jedem Experiment eichten. Vor jedem Versuch wurden das Schlauchsystem und die beiden 50 ml-Luer-Lok-Spritzen der Pumpe mit einem Desinfektionsmittel (Satina-sept) gereinigt und durchgespült und anschließend sterilisiert.

Den 4-stündigen Experimenten ging eine 2-stündige Trinkperiode unmittelbar voraus, während welcher viertelstündlich diejenige Menge an Wasser bzw. ungezuckertem Brombeerblättertee aufgenommen wurde, die bei entsprechender Fructosebelastung dem viertelstündlichen Infusionsvolumen entsprach. Diese Maßnahme war nötig, da sich bei den 6-stündigen Infusionen, bei deren Beginn die Versuchspersonen etwa 1 l Wasser in wenigen Minuten zu sich nahmen, herausstellte, daß eine gleichmäßige Diurese viel zu spät erzielt wurde. Der 2-stündige vorgeschobene Trinkversuch gewährleistete jedoch das erforderliche Flüssigkeitgleichgewicht. In allen Fällen erschienen die Versuchspersonen nüchtern zur Infusion. Nach der Abnahme von Nüchternen-Urin und Nüchternenblut wurde mit der Infusion begonnen, bei der es sich um sterilisierte pyrogenfreie 10 %ige Fructoselösung handelte.

Der Dauertropf wurde am linken Unterarm angelegt. Die Blutentnahmen erfolgten mittels einer Braunüle aus der Kubitalvene oder einer anderen weittlumigen Vene des rechten Unterarms. Die Blutproben sowie das Sammeln des Spontanurins wurden

in Abständen von 30 Minuten vorgenommen; dabei wurde das Blut in der Mitte der Urin-Sammelperioden gewonnen. Die Urin-gewinnung erfolgte bis eine $3/4$ Stunde nach Infusionsende, die letzte Blutprobe entnahmen wir 30 Minuten nach Absetzen der Infusion. Zur Kontrolle der eingestellten Zufuhrquoten wurde die verbrauchte Fructose-Lösung anhand der benötigten Flaschen und Flaschenreste nachgeprüft. Die einzelnen Blutvolumina wurden $1/2$ Stunde nach ihrer Entnahme abzentrifugiert, und die Seren wurden über Nacht im Kühlschrank in abgestöpselten Zentrifugengläsern aufbewahrt, desgleichen der Urin, da die enzymatische Harnsäurebestimmung jeweils am nächsten Tag erfolgte.

C. Ergebnisse

Bei den meisten Fructoseinfusionen ergaben sich nach Einstellung des Gleichgewichts auffallend konstante Blutspiegel der Harnsäure. Durch die Verwendung einer Infusionspumpe war die Einhaltung einer konstanten Zufuhrquote gewährleistet, so daß die teilweise aufgetretenden Schwankungen der Serum-harnsäurespiegel mit Sicherheit auf Intermediärprozesse zurückzuführen sind, denn beim Vergleich der Einzelkurven untereinander waren keine Gesetzmäßigkeiten im zeitlichen Ablauf dieser Undulationen festzustellen. Die Einstellung des Gleich-

gewichts, gemessen an der jeweiligen Mittelwertkurve war spätestens nach 90 Minuten vollzogen. Eine Ausnahme bildete hier das Verhalten der Serumharnsäure bei den 4-stündigen Versuchen mit einer Zufuhrquote von 1,0 g/kg KG/h. Hier war der Gleichgewichtszustand erst nach 150 Minuten erreicht (Fig.2).

1. Versuche mit einer Zufuhrquote von 0,25 g Fructose/kg KG/h:

Infusionsdauer: 3 Stunden

Zahl der Versuchspersonen: 1

Der Nüchternwert des Harnsäurespiegels im Serum lag bei 5,50 mg%, wobei sich die halbstündlich bestimmten Werte zwischen 5,40 mg% und 5,50 mg% bewegten.

Die halbstündliche Harnsäureausscheidung konnte wegen des sehr kleinen Infusionsvolumens nicht ermittelt werden, demzufolge die Versuchsperson nicht in der Lage war, in Abständen von 30 Minuten Spontanurin abzugeben.

2. Versuche mit einer Zufuhrquote von 0,5 g Fructose/kg KG/h:

Infusionsdauer: 4 Stunden

Zahl der Versuchspersonen: 3

Den Versuchen ging eine 2-stündige Trinkperiode voraus.

Der Nüchternwert der Serumharnsäure betrug im Mittel 5,0 mg%, die halbstündlich gemessenen Werte schwankten zwischen 4,90 mg% und 5,50 mg%, die Mittelwerte zeigten eine

Variationsbreite von 0,15 mg%.

Die Harnsäureausscheidung hatte ihren tiefsten wert bei 8 mg/30 Minuten, der höchste Wert der halbstündlich ausgeschiedenen Uratmenge lag bei 18,5 mg/30 Minuten. Insgesamt zeigten die einzelnen Excretionsmengen der Urinharnsäure unter obiger Belastung kein einheitliches Niveau wegen des geringen Infusionsvolumens (Fig. 1).

3. Versuche mit einer Zufuhrquote von 1,0 g Fructose/kg KG/h:

a) Infusionsdauer: 4 Stunden

Zahl der Versuchspersonen: 5

Die Versuchspersonen unterzogen sich vor Infusionsbeginn einem 2-stündigen Trinkversuch. Der Nüchternwert der Serumharnsäure lag im Durchschnitt bei 4,70 mg%, die unter Fructoseinfusion halbstündlich gemessenen Werte reichten von einem Tiefstwert von 3,75 mg% bis zu einem Maximum von 7,40 mg%. Sämtliche 5 Einzelkurven ließen einen Anstieg der Serumharnsäure erkennen, die Kurve der Mittelwerte zeigte eine Variationsbreite von 1,10 mg%, wobei der höchste Wert mit 5,80 mg% nach einer Infusionsdauer von 150 Minuten erreicht war (Fig. 2).

Die halbstündlich gemessene Harnsäureausscheidung belief sich auf Mengen zwischen 14 mg/30 Minuten und 17 mg/30 Minuten, wobei die ausgeschiedene Harnsäuremenge während der gesamten Versuchsdauer einen konstanten Spiegel zeigte (Fig. 2)

b) Infusionsdauer: 6 Stunden

Zahl der Versuchspersonen: 3

Bei dieser Versuchsanordnung war der Fructoseinfusion kein Trinkversuch vorausgegangen.

Der gemittelte Nüchternwert dieser 3 Versuche betrug 5,20 mg%, der niedrigste Wert aller Einzelkurven lag bei 4,60 mg%, der Höchstwert bei 6,10 mg%. Die Schwankungsbreite aller Mittelwerte betrug 0,25 mg% (Fig. 3).

Die Harnsäureausscheidung reichte von 8,5 mg/30 Minuten bis 30,5 mg/30 Minuten, und nach 90 Minuten war ein konstantes Niveau der ausgeschiedenen Uratmenge erreicht (Fig. 3).

4. Versuche mit einer Zufuhrquote von 1,5 g Fructose/kg KG/h:

a) Infusionsdauer: 4 Stunden

Zahl der Versuchspersonen: 4

Der Fructoseinfusion war ein 2-stündiger Trinkversuch vorangestellt worden.

Bei einem mittleren Nüchternwert von 4,90 mg% war nach 90 Minuten der höchste Wert mit 6,30 mg% erreicht. Danach stellte sich ein ausgeglichener Harnsäurespiegel im Serum ein, dessen niedrigster Wert bei 6,0 mg% lag. Bei den Einzelkurven betrug der tiefste Wert 4,45 mg% und der höchste 7,20 mg%. Drei von vier Einzelkurven ließen einen deutlichen Anstieg der Serumharnsäure erkennen (Fig. 4).

Die Harnsäuremenge im Harn zeigte einen sehr konstanten Spiegel, welcher sich zwischen 13 mg/30 Minuten und 16 mg/30 Minuten bewegte.

b) Infusionsdauer: 6 Stunden

Zahl der Versuchspersonen: 4

Hier wiederum war kein Trinkversuch unternommen worden.

Der gemittelte Nüchternwert der Serumharnsäure betrug 5,10 mg und nach 90 Minuten war mit 6,35 mg% der höchste Blutspiegel während der gesamten Versuchsdauer erreicht. Das konstante Niveau des Harnsäurespiegels im Serum zeigte sich nach 90 Minuten und fiel anschließend wieder leicht ab bis auf einen Tiefstwert von 6,0 mg% (Fig. 5). Der niedrigste Wert aller Einzelkurven betrug 4,55 mg%, das Maximum lag bei 7,25 mg%.

Die renale Harnsäureausscheidung pendelte sich nach einem initialen hohen Wert von 35 mg/30 Minuten nach 2 Stunden auf einen konstanten Spiegel ein, dessen niedrigster Wert mit 13 mg/30 Minuten erreicht war (Fig. 5).

Für die Versuche mit einer Zufuhrquote von 1,0 und 1,5 g Fructose/ kg KG/h wurden Signifikanzberechnungen angestellt, welche jeweils die 4-stündigen und die 6-stündigen Infusionsversuche einer Gruppe mit gleicher Fructosedosierung umfassten.

Die Berechnungen betrafen die Serumharnsäure und lieferten folgende Ergebnisse:

1. Versuche mit einer Zufuhr rate von 1,0 g Fructose/kg KG/h
4-stündige und 6-stündige Versuche

Erklärung der Symbole:

$S(x)$ = Summe aller Meßwerte einer Meßreihe

$\bar{x}$ = arithmetischer Mittelwert

n = Zahl der Meßwerte

$S_x(S_1, S_2)$ = Summe der Quadrate aller Abweichungen der Einzelwerte vom Mittelwert

$S_{\bar{x}}$ = Standardabweichung des Mittelwertes (mittlerer Fehler)

s_d = Standardabweichung der Differenz der beiden Meßreihen

σ = Standardabweichung = mittlere quadratische Abweichung

$\Delta \bar{x}$ = Unterschied der arithmetischen Mittelwerte

t = Prüfquotient

v = Zahl der Freiheitsgrade

Es gelten folgende Formeln:

$$\sigma = \sqrt{\frac{S_x}{n-1}}$$

$$S_x = S(x^2) - \frac{[S(x)]^2}{n}$$

$S(x^2)$ = Summe der Quadrate aller Einzelwerte einer Meßreihe

$$s_{\bar{x}} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

$$\bar{x} = \frac{S(x)}{n}$$

$$s_d = \sqrt{\frac{S_1 + S_2}{n_1 + n_2 - 2} \cdot \frac{n_1 + n_2}{n_1 \cdot n_2}}$$

$$t = \frac{\Delta \bar{x}_{1,2}}{s_d}$$

$$v = n_1 + n_2 - 2$$

Berechnung der Standardabweichung

Nüchternwerte:	$S(x) = 39,50$	$S(x^2) = 200,25$
	$S_1 = 5,22$	$\sigma = \mp 0,86$
	$s_{\bar{x}} = \mp 0,305$	$\bar{x}_1 = 4,94$

Werte nach 150 Minuten:

	$S_2 = 6,6$	$\sigma = \mp 0,97$
	$s_{\bar{x}} = \mp 0,34$	$\bar{x}_2 = 5,70$

Berechnung der Signifikanz

	$s_d = \mp 0,4593$	$\bar{x} = 0,76$
	$t = 1,65$	$v = 14$

Ergebnis: Bei einer Zufuhr rate von 1,0 g Fructose/kg KG/h

kommt es 150 Minuten nach Infusionsbeginn von einem

Nüchternwert der Serumharnsäure von $4,94 \mp 0,86$ mg%

zu einem Anstieg derselben auf $5,70 \mp 0,97$ mg% ($p < 0,1$)

2. Versuche mit einer Zufuhr rate von 1,5 g Fructose/kg KG/h:

4-stündige und 6-stündige Versuche

Berechnung der Standardabweichung

Nüchternwerte: $S(x)$	=	40,30	$S(x^2)$	=	206,39
S_1	=	3,4	σ	=	$\pm 0,696$
$S_{\bar{x}}$	=	$\pm 0,245$	$\bar{x}_1$	=	5,03

werte nach 90 Minuten:

$S(x)$	=	50,80	$S(x^2)$	=	324,89
S_2	=	2,30	σ	=	$\pm 0,573$
$S_{\bar{x}}$	=	$\pm 0,202$	$\bar{x}_2$	=	6,35

Berechnung der Signifikanz

S_d	=	$\pm 0,319$	$\bar{x}_{1,2}$	=	- 1,32
t	=	4,13	ν	=	14

Ergebnis: Bei einer Zufuhr rate von 1,5 g Fructose/kg KG/h

kommt es 90 Minuten nach Infusionsbeginn von einem Nüchternwert der Serumharnsäure von 5,03 $\pm 0,69$ mg% zu einem Anstieg derselben auf 6,35 $\pm 0,57$ mg% ($p < 0,0025$).

Zahl der Versuchspersonen	Fructose in g/kg KG/h	Infusionsdauer in Stunden	Mittlere Urinharnsäure in Stunden	Entsprechende Uratmenge im 24 h-Urin
2	0,5	4	117,88	707,4
5	1,0	4	155,68	934,1
3	1,0	6	210,93	847,7
4	1,5	4	147,65	885,9
4	1,5	6	239,06	956,2

Tab. 2: Gesamtharnsäureausscheidung der einzelnen Versuchsgruppen

Die Normalwerte für die tägliche Harnsäureausscheidung im Urin liegen zwischen 80 mg und 976 mg (6). Vergleicht man diese Normalwerte mit den entsprechenden Ergebnissen der Tab. 2, so kann man feststellen, daß sich die Menge der im Urin ausgeschiedenen Harnsäure während unserer Versuche im physiologischen Bereich bewegte, das heißt, die Fructoseinfusionen hatten keinen ersichtlichen Einfluß auf die renale Harnsäureausscheidung.

Die in Fig. 1-5 gestrichelt dargestellten Säulen wurden in unseren Berechnungen nicht berücksichtigt, da die entsprechenden Harnsäuremengen aus dem Nachturin der Versuchspersonen stammten und wir natürlich nicht wissen, über welchen Zeitraum diese Uratmenge gebildet und ausgeschieden worden war.

Flüssigkeitsbilanz

Das durch die Infusionen zugeführte Flüssigkeitsvolumen war eine dreiviertel Stunde nach Infusionsende noch nicht restlos ausgeschieden. Bei der Zufuhr rate von 0,5 g/kg KG/h wurden im Mittel 93,8 % des aufgenommenen Flüssigkeitsvolumens wieder ausgeschieden.

Bei 1,0 g Fructose/kg KG/h wurden 92,1 % der zugeführten Flüssigkeit eliminiert. Bei 1,5 g/kg KG/h war das retinierte Flüssigkeitsvolumen deutlich höher. Hier wurden im Durchschnitt 6630 ml Flüssigkeit infundiert, während nur 5560 ml zur Ausscheidung gelangten. Dies entspricht 83,8 %. Bei diesen Berechnungen wurde das vor der Fructoseinfusion oral aufgenommene Wasservolumen berücksichtigt.

Nebenwirkungen

Bei unseren Versuchen ergaben sich bis zu Zufuhrquoten von 1,0 g/kg KG/h keinerlei Komplikationen. Bei Zufuhr von 1,5 g/kg KG/h traten in 2 Fällen subjektive Beschwerden auf, welche jedoch keine medikamentösen Eingriffe erforderten.

Bei der ersten Person trat etwa 10 Minuten nach Infusionsbeginn ein präcordiales Druckgefühl auf, welches bis unter das Xiphoid ausstrahlte und mit einer leichten Pulsbeschleunigung einherging. Außerdem wurden von der betreffenden Versuchsperson "leichte Krämpfe" im Oberbauch und linken Hypochondrium angegeben, welche subjektiv auf den oral aufgenommenen ungezucker-

ten Brombeerblätterttee zurückgeführt wurden. Beide Beschwerdebilder klangen nach einer Viertelstunde ab.

Im anderen Falle trat während der 2. Infusionshälfte bei der genannten Person unmittelbar nach jeder weiteren halbstündlichen Miktion in der Gegend beider Nierenlager ein mittelstarker Schmerz auf, der jedesmal ca. 5 Minuten andauerte. Weiterhin ist hier bemerkenswert, daß der betreffende Mann insgesamt 2000 ml Flüssigkeit retinierte.

Von 4 Versuchspersonen, welche 1,5 g/kg KG/h infundiert bekommen hatten, erfuhren wir und überzeugten uns auch palpatorisch davon, daß die Unterarmvene, in welche die Infusion verabreicht worden war, etwa 5 cm proximal der Injektionsstelle thrombosiert war. Außerdem bestand in diesem Bereich in den ersten Tagen eine erhebliche Druckempfindlichkeit. Dieser Gefäßverschluß ist mit Sicherheit auf eine Reizung der Venenwand durch die lange Einwirkungszeit der hypertonen Fructoselösungen zurückzuführen.

Die Personen, welche sich der höchsten Zufuhr rate von 1,5 g/kg KG/h unterzogen hatten, klagten nach Versuchsende lediglich über eine ungewöhnlich starke Müdigkeit.

Diskussion

Fructoseinfusionen haben in Abhängigkeit von der Zufuhrquote einen unterschiedlich hohen Anstieg der Harnsäure im Serum zur Folge. Nur große Mengen an Fructose, und zwar über 1,0 g/kg KG/h bewirken eine signifikante Hyperuricämie. Unsere Untersuchungen liefern auch eine Erklärung für die unterschiedlichen Bewertungen der Fructosewirkung auf den Serumharnsäurespiegel (9,2,13,4,11 und 8). Demnach sind die auseinandergehenden Antworten auf die Frage, ob es sich um einen Anstieg der Serumharnsäure handelt oder nicht und in welchem Ausmaß ein solcher zustande kommt, auf die teilweise recht erheblich differierenden Zufuhrquoten zurückzuführen. Die ursprüngliche Mitteilung von PERHEENTUPA und RAIVIO (9), wonach bereits eine intravenöse Zufuhr von 0,5 g/kg KG/h zu einem Anstieg der Serumharnsäure führt, gründet sich auf Versuche an Säuglingen und Kleinkindern, welche möglicherweise auf Fructosezufuhr mit ihrem Serumharnsäuregehalt anders als Erwachsene antworten. Unsere Versuche lassen bei einer Fructosezufuhr von 0,5 g/kg KG/h keinerlei Änderungen oder Zunahmen der Serumharnsäure erkennen.

Höhere Dosen an Fructose haben nicht etwa einen kontinuierlichen Harnsäureanstieg zu Folge, sondern die Harnsäure pendelt sich nach einem anfänglichen schnellen Zuwachs, welcher nach 90 Minuten vollzogen ist, auf einen Gleichgewichtszustand ein (Fig. 2-5).

Hinsichtlich des Mechanismus der durch Fructose induzierten Hyperuricämie kommen wahrscheinlich 2 Möglichkeiten in Frage:

1. Es ist hinreichend bewiesen, daß Fructoseinfusionen immer zu einem starken Lactatanstieg im Blut führen (9,11,1,14), und dieser hemmt wiederum die renale Harnsäureausscheidung (9). Unsere Versuche haben gezeigt, daß trotz ansteigender Serumharnsäurekonzentration die Harnsäureexkretion nicht zunimmt, - im Gegensatz zu den Befunden von (9,4) - sondern unverändert bleibt. Nun wäre es denkbar, daß die Hemmwirkung des Lactats eine zunehmende Ausscheidung der Harnsäure verhindert. Da die Harnsäure im Serum ansteigt und ihre Ausscheidung im Urin nicht zunimmt, muß auch für unsere Versuche ein hemmender Einfluß des Lactats auf die renale Harnsäureausscheidung angenommen werden.
2. Die Tatsache, daß sich durch Allopurinol ein Harnsäureanstieg im Serum verhindern läßt (5), deutet darauf hin, daß es sich bei der Fructose - induzierten Hyperuricämie um eine Harnsäureneubildung handelt. Außerdem spricht die Geschwindigkeit des Anstiegs der Serumharnsäure eher für eine Neubildung derselben als für einen renalen Hemm-Mechanismus. Eine de-novo-Purinsynthese schneidet höchstwahrscheinlich aus, da hierfür der Harnsäureanstieg ebenfalls zu rasch vonstatten ginge.

Fructose wird in der Leber viermal so schnell phosphoryliert wie vergleichsweise Glucose (12). Höchstwahrscheinlich kommt der Harnsäureneubildung aus bereits präformierten Purinkörpern,

insbesondere aus ATP, eine entscheidende Bedeutung zu (8). Wie weiterhin aus Versuchen an isolierten Rattenlebern hervorgeht, kommt es unmittelbar nach Fructoseinjektion zu einem deutlichen ATP-Abfall, der schon nach 5 Minuten sein Maximum erreicht hat. Gleichzeitig nimmt die Konzentration von ADP und AMP vorübergehend etwas zu, allerdings nicht in dem erwarteten Ausmaß, und beim anorganischen Phosphat vollzieht sich der Abfall noch schneller und ausgeprägter als beim ATP (8,14).

Korrelierend zum Verhalten dieser energiereichen Metabolite steigen Harnsäure und Allantoin, welches bei Ratten das Endprodukt des Purinabbaus darstellt, an. Die Erklärung liegt nach Meinung von MÄENPÄÄ und Mitarb. (8) in den stoffwechselaktiven Eigenschaften der Adenylatdeaminase, welche infolge des Absinkens anorganischen Phosphats stark aktiviert wird, was wiederum zu einem Abbau der Adenylnucleotide führt. Zudem begünstigt der vorübergehende Anstieg der Substratkonzentration (ATP) den Zusammenbruch der Adeninnukleotide.

Unter Zugrundelegung des gemessenen Serumharnsäureanstiegs von durchschnittlich 1,3 mg% bei einer Fructosezufuhr von 1,5 g/kg KG/h und einem Harnsäureraum von 17 Litern für einen 70 kg schweren Mann ergibt sich eine Gesamtharnsäurezunahme von 221 mg. Berücksichtigen wir weiter die Molekulargewichte von ATP und Adenin, so können wir die Menge an ATP berechnen, welche den Harnsäureanstieg von 221 mg veranlaßt. Man erhält danach einen Wert von 665 mg ATP, welcher also der zu Harnsäure abgebauten ATP-Menge entspricht. Es bleibt allerdings

offen, inwieweit ATP das einzige Nucleotid ist, das infolge von Fructoseinfusionen zu Harnsäure metabolisiert wird. Vermutlich wird ein Teil der Fructose über den Pentosephosphatcyclus (9), welcher im wesentlichen der Bereitstellung von Phosphoribosylpyrophosphat, dem Substrat und der Ausgangssubstanz des ersten irreversiblen Schrittes für die de-novo-Purinsynthese dient, abgebaut. Hierbei werden weitere Purinverbindungen wie NADH zum Abbau benötigt.

Anschließend sei noch einmal darauf hingewiesen, daß die meisten der unter 2. erwähnten Befunde von Versuchen an Ratten stammen und heute noch nicht gesagt werden kann, inwieweit diese Resultate auf den Menschen übertragbar sind.

Zusammenfassung

Es wurde das Verhalten von Serumharnsäure und Harnsäureausscheidung im Urin unter mehrstündiger intravasaler Fructoseinfusion beschrieben.

Die Zufuhr der Hexose erfolgte mit konstanter Einlaufgeschwindigkeit, und dem Verhalten der Serum- und Urinharnsäure unter verschiedenen Fructosekonzentrationen wurde besondere Bedeutung zugemessen. Hierbei zeigte es sich, daß die verschieden hohen Blutspiegel der Harnsäure dosisabhängig sind.

Wir führten insgesamt 22 Versuche an stoffwechselgesunden Männern im Alter von 19 - 26 Jahren durch, wobei die Dosierungen 0,25, 0,5, 1,0 und 1,5 g/kg KG/h betrugen. Ab 1,0 g Fructose war der Anstieg signifikant. Die Harnsäureausscheidung blieb bei sämtlichen Versuchspersonen während der gesamten Versuchsdauer unverändert.

Zur Interpretation des Mechanismus der Fructose-induzierten Hyperuricämie bieten sich zwei Möglichkeiten an:

1. Das Lactat, welches unter Fructose stark ansteigt, hemmt die renale Harnsäureausscheidung.
2. Wie aus Befunden an isolierten Rattenlebern hervorgeht, kommt der Harnsäurebildung aus bereits präformierten Purinkörpern, insbesondere aus ATP, eine entscheidende Bedeutung zu. Infolge eines steilen Abfalls anorganischen Phosphats

unter Fructose wird das Enzym Adenylatdeaminase stark aktiviert. Dieser Enzyminduktion ist der Abbau der Adeninnucleotide zuzuschreiben, welcher schließlich in den Harnsäurepool mündet und so eine weitere Erklärungsmöglichkeit für den Harnsäureanstieg im Serum bietet.

Zur enzymatischen Harnsäurebestimmung bedienten wir uns einer einfachen Modifikation der enzymatischen Methode nach ZÖLLNER (15), wobei wir sämtliche Analysen als Doppelbestimmungen ausführten.

Fructosezufuhr : 0,5g/kg/Std
 Infusionsdauer : 4 Std
 orale Wasserzufuhr : 2 Std

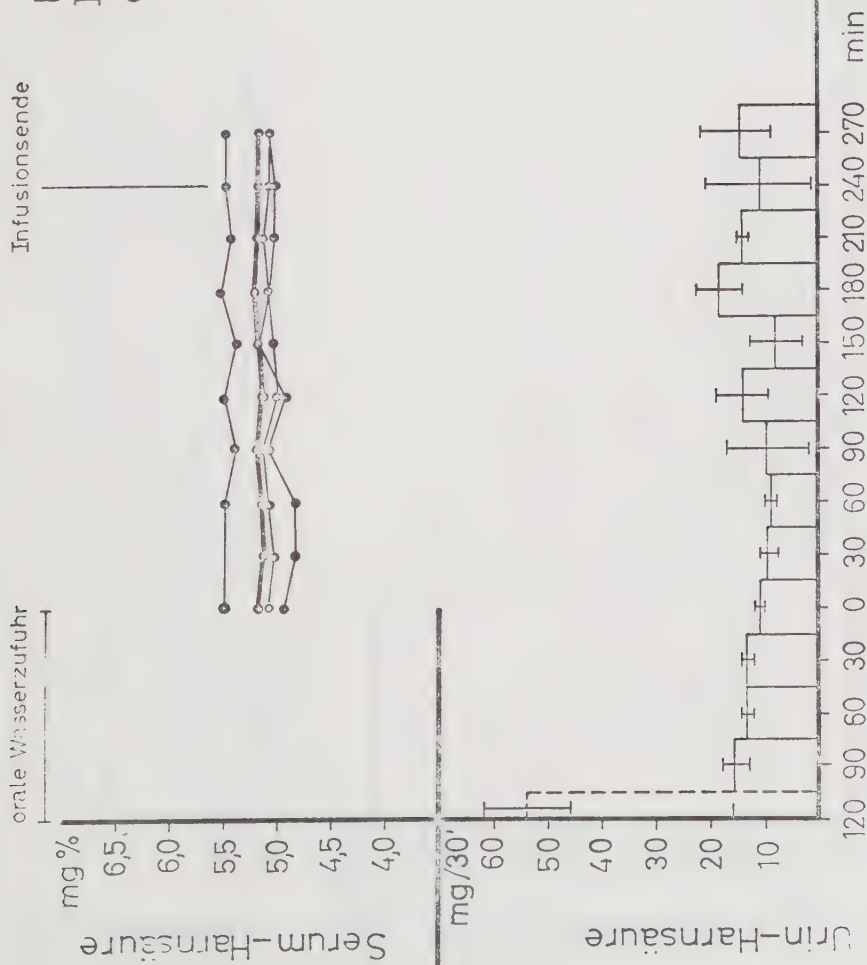
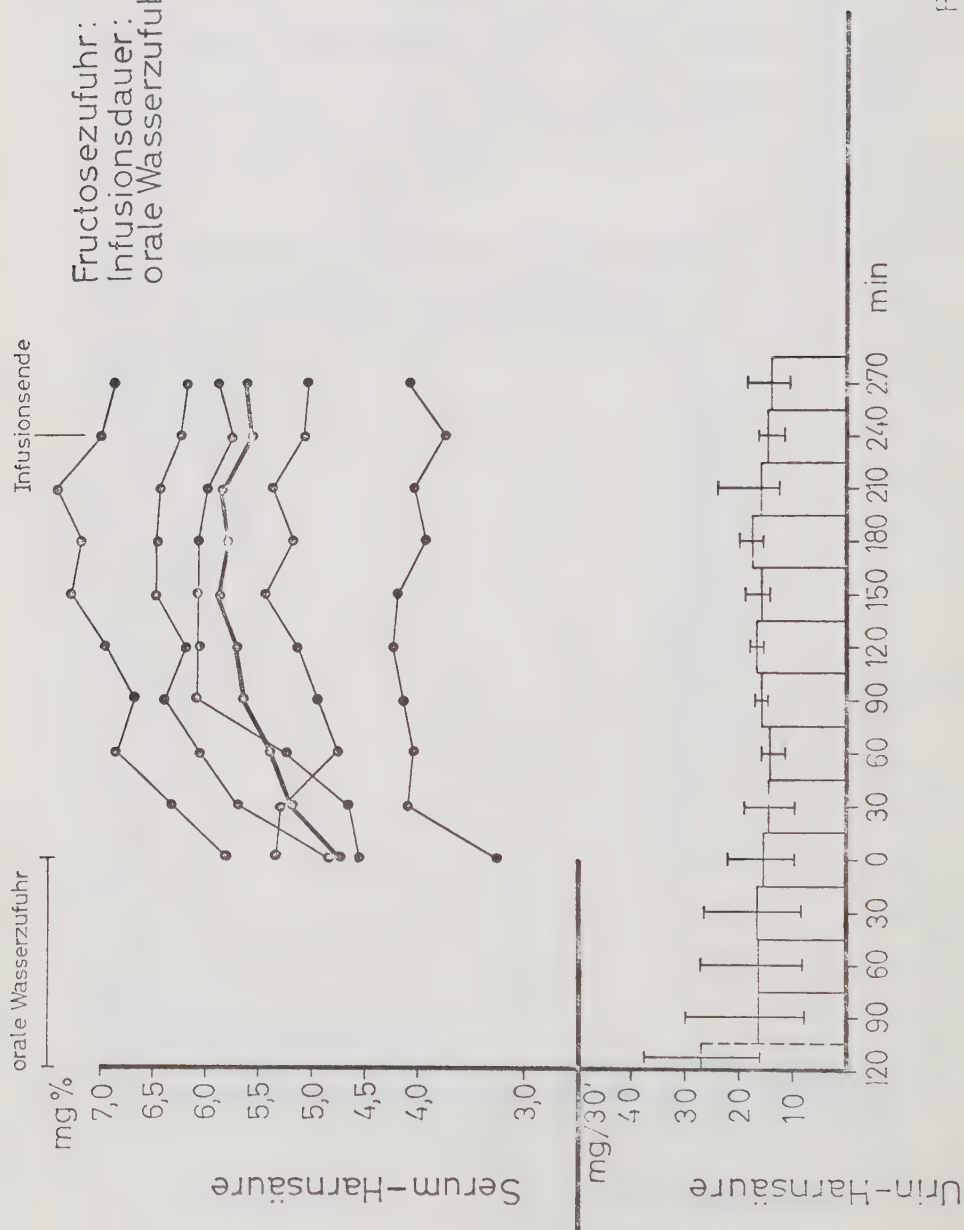


Fig.1



Fructosezufuhr: 1,0 g/kg/Stk
 Infusionsdauer: 6 Std

- 42 -

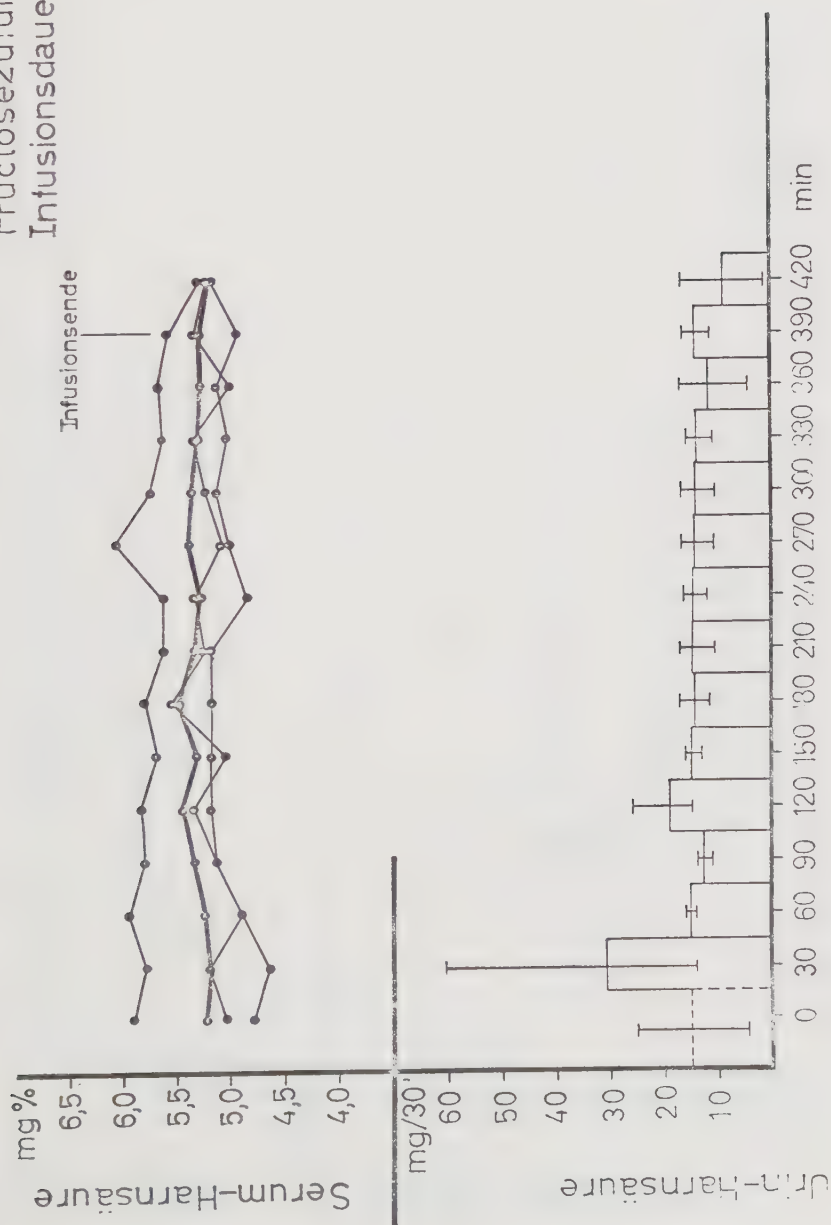


Fig. 3

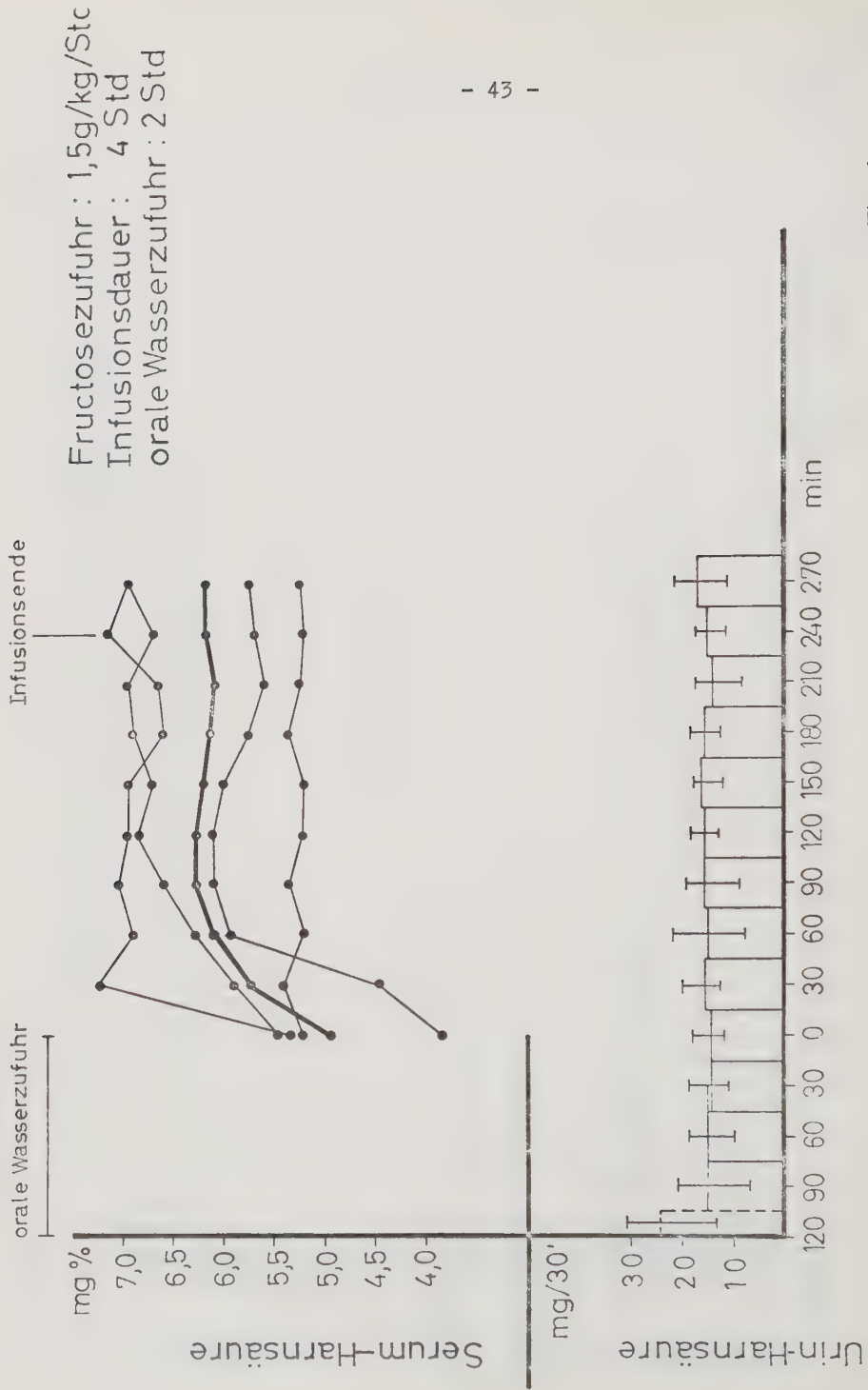


Fig. 4

Fructosezufuhr : 1,5g/kg/Std
 Infusionsdauer : 6 Std

- 44 -

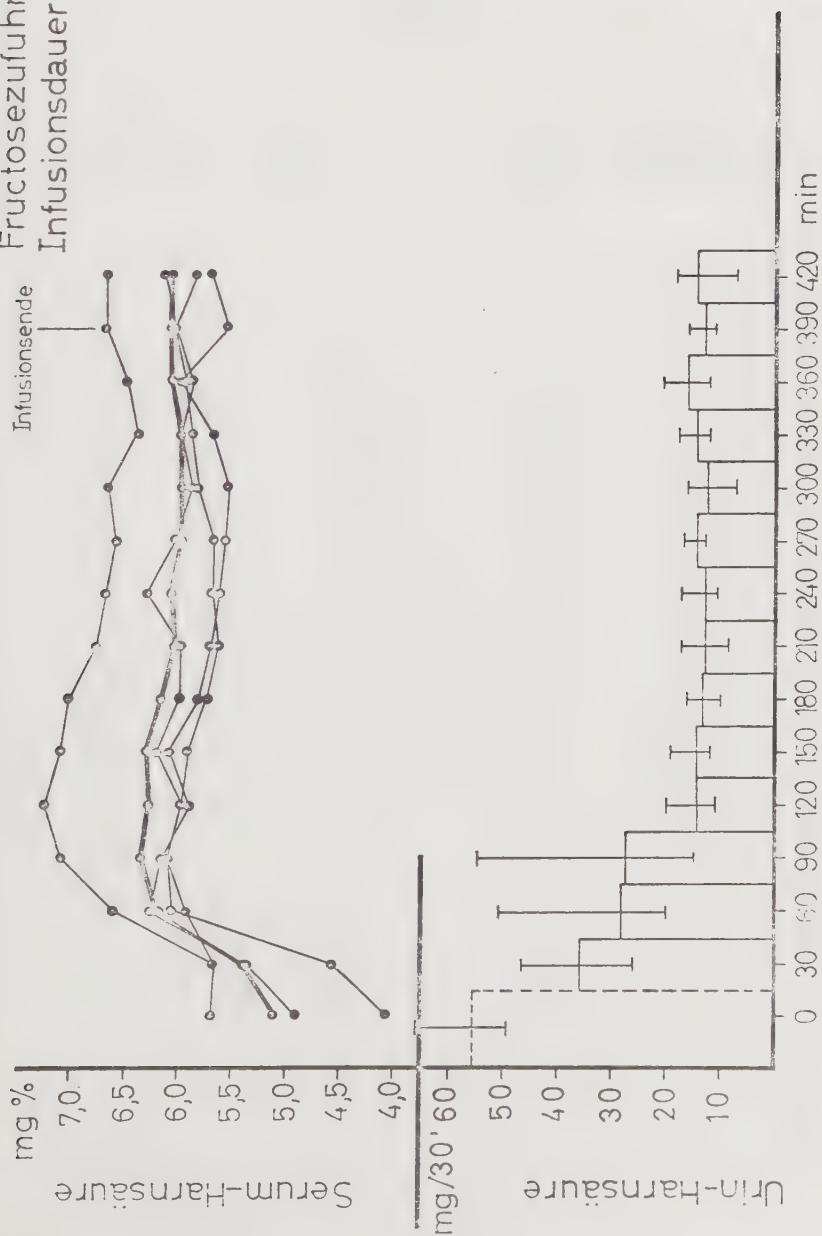


Fig. 5

Tabelle 3

Serumharnsäure in mg%

Dosierung: 0,5 g/kg KG/h

Zeit	M.B.	D.M.	S.M.
0	5,10	5,95	5,50
30'	5,05	4,85	5,50
60'	5,10	4,85	5,50
90'	5,15	5,10	5,40
120'	5,00	4,95	5,50
150'	5,05	5,20	5,40
180'	5,10	5,10	5,53
210'	5,05	5,15	5,45
240'	5,05	5,10	5,50
270'	5,10	5,10	5,50

Tabelle 4

Serumharnsäure in mg%

Dosierung: 1,0 g/kg KG/h

Zeit	D.M.	K.S.	N.W.	W.B.	G.S.	M.T.	J.W.	G.M.
0	5,05	5,92	4,80	4,80	5,80	5,36	4,55	3,25
30'	5,20	5,77	4,65	5,70	6,30	5,30	4,65	4,10
60'	4,90	5,95	4,90	6,05	6,85	4,75	5,27	4,05
90'	5,15	5,80	5,15	6,40	6,70	4,93	6,12	4,15
120'	5,35	5,85	5,20	6,17	6,95	5,15	6,10	4,25
150'	5,05	5,70	5,20	6,50	7,30	5,45	6,10	4,20
180'	5,55	5,82	5,20	6,50	7,20	5,20	6,10	3,95
210'	5,25	5,65	5,20	6,45	7,45	5,40	6,00	4,05
240'	5,35	5,65	5,85	6,25	7,02	5,10	5,75	3,75
270'	5,10	6,12	5,05	6,20	6,90	5,05	5,90	4,10
300'	5,25	5,75	5,15					
330'	5,35	5,65	5,05					
360'	5,00	5,70	5,15					
390'	5,30	5,60	4,95					
420'	5,25	5,30	5,20					

Tabelle 5

Serumharnsäure in mg%

Dosierung: 1,5 g/kg KG/h

Zeit	K.S.	K.E.	N.W.	H.O.	W.H.	M.S.	H.W.	w.k.
0	5,70	4,05	4,90	5,72	5,22	5,30	3,85	5,45
30'	5,65	4,55	5,37	5,65	5,40	7,25	4,45	5,90
60'	5,92	6,05	6,23	6,62	5,20	6,90	5,95	6,30
90'	6,07	6,10	6,15	7,10	5,35	7,05	6,10	6,60
120'	5,97	5,95	5,90	7,25	5,20	6,95	6,10	6,85
150'	6,20	5,92	6,07	7,10	5,20	6,95	6,00	6,70
180'	6,00	5,75	5,82	7,02	5,30	6,60	5,75	6,90
210'	6,00	5,65	5,70	6,77	5,25	6,65	5,60	6,95
240'	6,32	5,70	5,65	6,67	5,20	7,15	5,70	6,70
270'	6,05	5,72	5,60	6,60	5,25	6,95	5,75	6,95
300'	5,92	5,85	5,55	6,67				
330'	6,00	5,90	5,70	6,40				
360'	5,90	5,95	6,00	6,52				
390'	6,05	6,05	5,55	6,70				
420'	5,85	6,17	5,72	6,70				

Tabelle 6

Urinharnsäure in mg/30 min

Dosierung: 0,5 g/kg KG/h

Zeit	D.M.	M.B.
15'	46,2	62,1
45'	18,0	12,6
75'	14,0	11,9
105'	12,0	14,0
135'	10,6	10,8
165'	11,2	7,40
195'	7,40	9,70
225'	1,80	17,0
255'	18,7	9,30
285'	3,20	12,3
315'	22,6	14,3
345'	13,0	14,9
375'	0,50	20,9
405'	21,7	8,60

Tabelle 7

Urinharnsäure in mg/30 min

Dosierung: 1,0 g/kg KG/h

Zeit	D.M.	K.S.	N.W.	W.B.	G.S.	M.T.	J.W.	G.M.
15'	4,10	25,0	15,1					
45'	60,7	13,9	17,3	37,9	32,5	16,3	29,6	17,8
75'	16,1	13,8	14,4	8,20	29,8	13,6	16,5	15,1
105'	11,0	13,6	13,1	8,40	27,6	12,2	15,5	18,3
135'	25,8	16,2	14,7	8,70	26,7	18,0	13,9	16,2
165'	13,0	15,5	15,8	10,1	22,3	12,6	13,1	19,2
195'	11,4	14,4	16,8	10,1	17,2	12,4	14,7	18,9
225'	11,2	15,2	17,2	15,2	16,0	13,5	11,6	15,0
255'	11,9	15,0	16,6	17,3	16,0	15,2	14,8	16,1
285'	11,0	14,9	17,0	16,5	18,2	15,6	16,8	17,0
315'	10,4	15,2	17,1	15,7	14,5	15,2	14,9	19,0
345'	11,1	15,2	15,5	19,2	16,5	15,4	16,8	20,0
375'	4,00	13,1	16,8	14,6	14,3	15,0	12,5	24,3
405'	16,4	11,2	13,4	16,6	14,5	15,0	16,5	12,3
435'	0,50	9,30	16,6	16,3	12,0	10,7	12,5	19,1

Die eingeräumten Zahlenwerte stellen die halbstündlich gemessenen Werte der Urinharnsäure während der Trinkversuche vor Infusionsbeginn dar.

Tabelle 8

Urinharnsäure in mg/30 min

Dosierung 1,5 g/kg KG/h

Zeit	K.S.	K.E.	N.W.	H.O.	W.H.	M.S.	H.W.	W.K.
15'	66,0	54,0	53,3	48,9				
45'	26,1	46,5	30,8	39,9				
75'	50,6	20,0	21,7	20,4				
105'	55,1	15,1	18,5	18,5				
135'	11,8	13,0	20,0	11,2	10,8	11,6	15,0	18,5
165'	13,5	12,0	18,9	11,8	13,0	11,8	12,5	18,2
195'	13,8	12,0	16,3	9,90	15,5	15,1	12,5	17,7
225'	12,5	13,0	16,9	8,40	7,80	17,8	13,0	20,2
255'	10,5	12,1	16,8	11,7	8,40	19,7	11,8	21,6
285'	12,5	14,3	16,6	13,6	12,9	19,3	12,5	17,2
315'	13,2	12,7	16,0	7,20	16,5	18,2	11,9	16,6
345'	13,2	12,2	17,4	13,2	14,5	17,6	12,1	16,5
375'	11,9	15,5	15,7	20,5	7,80	16,5	11,2	18,0
405'	10,8	11,3	15,8	12,0		16,8	10,9	16,8
435'	6,90	14,0	18,0	16,6		20,8	11,0	18,2

Die eingerahmten Zahlenwerte stellen die halbstündlich gemessenen Werte der Urinharnsäure während der Trinkversuche vor Infusionsbeginn dar.

Literaturverzeichnis

1. Bergström, J., Hultman, E., Roch-Norlund, A.E.:
Lactic acid accumulation in connection with fructose infusion
Acta med. scand.: 184, 359 - 364 (1968)
2. Cureri, P.W., Pruitt, B.A., Jr.:
Absence of fructose - induced hyperuricaemia in man
Lancet I, 839 (1970)
3. Förster, H., Mehnert, H., Alhoug, J.:
Anstieg der Serumharnsäure nach Verabreichung von Fructose
Klin. Wschr.: 45, 436 (1967)
4. Förster, H., Meyer, E., Ziege, M.:
Erhöhung von Serumharnsäure und Serumbilirubin nach hoch-
dosierten Infusionen von Sorbit, Xylit und Fructose.
Klin. Wschr.: 48, 878 - 879 (1970)
5. Giordano, G., Minuto, F., Caraceni, C., Scopinaro, N.:
L'iperuricaemia da Fruttosio
Reumatismo: 20, 124 (1968)
6. Geigy-Tabellen, S. 667, 7. Auflage
7. Kalckar, H.M., Shafran, J.:
Biol. Chemistry: 167, 429 (1947)

8. Mäenpää, P.H., Raivio, K.O., Kekomäki, M.P.:
Liver adenine nucleotides: Fructose - induced depletion
and its effect on protein synthesis
Science: 161, 1253 - 1254 (1968)
9. Perheentupa, J., Raivio, K.O.:
Fructose - induced hyperuricaemia
Lancet II, 528 - 531 (1967)
10. Praetorius, E., Poulsen, H.:
Scand. J. Clin. Lab. Invest.: 5, 273 (1953)
11. Sahebji, H., Scarlett, R.:
Effects of fructose infusion on lactate and uric acid
metabolism
Lancet I, 366 - 369 (1971)
12. Smith, H., Ettinger, H., Seligson, D.:
A comparison of the metabolism of fructose and glucose in
hepatic disease and diabetes mellitus
J. Clin. Invest.: 32, 273 - 282 (1953)
13. Stirpe, F., Della Corte, E., Bonetti, E.:
Fructose - induced hyperuricaemia
Lancet I, 1310 - 1311 (1970)
14. Woods, H.F., Eggleston, L.V., Krebs, H.A.:
The cause of hepatic accumulation of fructose-1-phosphate
on fructose loading
Biochem. J.: 119, 501 - 510 (1970)

15. Zöllner, N.:

Eine einfache Modifikation der enzymatischen Harnsäure-
bestimmung

Z. Klin. Chem.: 6, 178 - 182 (1963)

Lebenslauf

Am 25. Juli 1948 wurde ich als erstes von drei Kindern des Gymnasialrats Anton Schill geboren.

Nach dem Besuch der vorgeschriebenen 4 Jahre Grundschule trat ich 1959 in die erste Klasse des Peutingergymnasiums in Ellwangen /J. ein. Als Schüler des humanistischen altsprachlichen Zuges legte ich im Juli 1967 die Reifeprüfung ab.

Mein nun folgendes Medizinstudium begann ich im Herbst 1967 an der Ludwig - Maximilian - Universität in München, wo ich im September 1968 das Vorphysikum und im April 1970 das Physikum ablegte.

Krankenpflegedienst und Famulatur leistete ich auf der inneren und chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Ellwangen ab.

Vom 12. März bis 25. Juni 1973 legte ich an der Ludwig-Maximilian - Universität in München das Medizinische Staatsexamen ab.

